

09/463801

Microcapsule and process and apparatus for production thereof

O

Publication number: DE4312970**Publication date:** 1994-10-27**Inventor:** SCHREZENMEIR JUERGEN DR (DE);
POMMERSHEIM RAINER DIPL ING (DE); VOGT
WALTER DR (DE)**Applicant:** SCHREZENMEIR JUERGEN DR (DE);
POMMERSHEIM RAINER DIPL ING (DE); VOGT
WALTER DR (DE)**Classification:****- international:** A61K9/50; B01J13/04; C12N11/04; A61K9/50;
B01J13/04; C12N11/00; (IPC1-7): B01J13/02;
A61F2/02; A61K9/50; C12N5/00; C12N9/00**- european:** A61K9/50K; A61K9/50P; B01J13/04; C12N11/04**Application number:** DE19934312970 19930421**Priority number(s):** DE19934312970 19930421

Report a data error here

Abstract of DE4312970

The invention relates to a microcapsule, in particular for insertion into tissue of living creatures or for biotechnological applications, having a preferably spherical core, containing living cells and/or enzymes, and a casing enclosing it, and recommends that the casing is made up in a radial direction from a plurality of individual layers arranged one above the other, that the individual layers completely enclose the core on all sides, that the individual layer comprises a network of macromolecules interwoven together which form a porous membrane, that the pores of the individual layers are connected together in a radial direction to form a throughway, that the adjacent individual layers are covalently and/or electrostatically bonded together, that at least one of the individual layers is made up to be mechanically stable and that at least one of the individual layers has a mesh width which is greater than or equal to the diameter of the largest molecules required to supply the cells contained in the core and/or the molecules fed to the enzymes and/or molecules produced thereby. Furthermore, a process for applying the layers according to the invention and an apparatus utilising the magnetostriction or piezo effect for producing spheres from the core material are proposed.

Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide

Description OF DE4312970 The invention refers to a micro cap, in particular for using in fabrics of organisms or for biotechnological applications, with living cells and/or enzymes a containing, preferably spherical core and it enclosing covering, as well as a procedure and a device for their production. In order to maintain the function on a long-term basis into the fabric of organisms of assigned cells, the cells containing micro cap completely including covering is necessary. The task of this covering consists for example of arranging the micro cap mechanically stable in order to guarantee a remaining of the cells at the desired place. Further the task consists of making the supply possible of the micro cap from the outside for defence reactions possible of the organism and the enclosed cells too avoids and nevertheless the transport of the substances produced by the assigned cells from the inside outward to make. For example SI a micro cap with the described characteristics is suitable for using long Hans min shears islands into the fabric of Diabetikern. Similar demands are made at micro caps for biotechnological applications. Is intended also here to ensure the enclosed cells or enzymes on a long-term basis alive and in optimally active condition too received and a controlled exchange of material. The inclusion into a sturdy cap protects on the one hand the core against damaging effects from the outside, e.g. against infections, and on the other hand a contamination of the surrounding medium is avoided by the cells in the cap, what particularly when use towards-technologically manipulated Organi additional security ensures. Those, compared with the enclosed cells and enzymes, very large dimensions of the caps cause beyond that a substantial easement in the handling, particularly during the processing and pure production Substanzen. Auch completely new processes produced with their assistance become possible, for example the direct extraction of products already in the bioreactor by additive of organic solvents, which would kill not protected cells by the including covering within a short time. F. Lim and A. Sun (magazine "Science" volume 210, pages 908-910, class 1980) used a layer composed of Alginat and Polylysin, in order to in-encase of long Hans min sche islands. The procedure suggested by Lim and Sun plans mounting only one layer around the core. An electrostatic droplet generator became of M. Hommel et al. (EP 0,167,690) suggested. This generator from

polyelektrolyten umschlossene caps according to the principle of Lim and Sun. also these caps are produced only of only one, while an individual process step produced layer enclosed. It is very problematic, in only one process step a layer to received, their characteristics is co-ordinated with all practical requirements. Therefore it is not possible with the conventional methods to receive for example a cap with a long-term function of the implantierten cells making possible layer. Of it outgoing the invention the problem is the basis to manufacture micro caps whose it is optimized regarding different characteristics enclosing covering. According to invention this task is solved by the fact that the covering is developed in radial direction from several monolayers arranged one above the other that the monolayers enclose the core generally completely that the monolayer consists of a network interlaced with one another of macromolecules, which form a porous diaphragm the fact that the pores of the monolayers stand with one another in radial direction for the formation of a passage in connection that the neighbouring monolayers kovalent and/or electrostatically together bound is that at least one of the monolayers is mechanically stably developed and that at least one of the monolayers exhibits a mesh size, those more largely or equal the diameter of the largest, for the supply of the cells needed contained in the core and/or that the enzymes supplied and/or from them produced Molecules is. The core thought of the invention consists of one above the other attaching several monolayers in several process steps in radial direction, optimized in each case regarding a characteristic, around the core. All monolayers enclose the core completely. Such a monolayer consists of a spatial network of interlaced with one another macromolecules, which form a diaphragm of porous structure in their whole, similarly a sponge cloth or a filter fleece. It results to respective polymers at the surface of the cap in the structure from adsorption of the individual macromolecules from a diluted solution, beginning with a Partikelchen from the naked nuclear material. The mesh size (and/or pore size) and mechanical stability become thereby by the kind respective polymers, which and the kind of the preceding layer determines separation conditions. The pores are located with one another in connection (are open) and filled with the respective solvent, preferably to water, i.e. the layer poured. The exchange of material

takes place via diffusion of the solved materials in this swelling water. Only molecules, which are smaller or equal to the mesh size, can pass the layer. The connection of the monolayers among themselves, thus effected in radial direction, via a kovalente connection of the macromolecules or, if ions are contained in it, electrostatic of these monolayers is developed at least according to invention one in such a way that it exhibits a sufficient mechanical stability, whereby an accordingly high firmness is likewise lent to the entire micro cap, in order to arrange it sufficiently stable for a transplantation or a technological application. Another layer is in such a way arranged by interlacing molecules concerning their mesh size that they needed the diameter of the largest from the core to the supply or correspond from the enzymes converted molecules. Larger molecules, e.g. antibodies, which would be received with the core unwanted defence reactions, however can nutrients and other desired molecules cannot penetrate this layer happen. The production of the micro caps takes place in several process steps, in which the individual layers are attached gradually one above the other around the core. The advantages obtained with the invention consist primarily of the fact that to problem-free implanting into fabrics of organisms and for biotechnological applications which is suitable micro cap meets all practical requirements. Thus is possible, enzymes, to nourish hormones or other materials, which are the body for example by a illness-conditioned loss of the production cells, not in the necessary measure to manufacture able to let supply from the cap the cap by the body of the organism and thus a long-term, safe function too gewährleisten. In same for in principle way can the caps in a reactor, which is adapted to the survival necessities for the enclosed cells and/or the effectiveness of the enzymes, in addition be used, to convert from the outside supplied materials by the effect of the living cells or enzymes contained in the core into other desired value products. Is preferential to arrange biologically compatible the internal layer with the core in order to guarantee that it can deliver the necessary enzymes, hormones or other material for longer Z and that no unwanted defence reaction takes place here. If the cap is to be implanted into the fabric of the organism, it is appropriate, the outside layer with their environment to arrange compatible thus the fabric in order to avoid defence reactions of

the organism and a repulsion of the cap. The outside layer determines the compatibility of the entire cap, since it comes with the fabric into contact. If the cap is in a reactor, likewise a compatibility of the outside monolayer with its environment is necessary for the safety device of the operability. In the implementing of the monolayers different possibilities exist in the context of the invention. A favourable arrangement of the invention consists of the fact that the layers from a material with ionischer and/or kovalenter chemical connection are developed. These two binding types make stable layers possible, which are structurable using of biologically, organic materials compatible in particular. In particular offers itself to construct a monolayer from a polymer which is easily applyable biologically well compatibly and in addition. With cross-linking of polymers very thin layers on chemical way are attainable in a biologically meaningful temperature range in a liquid. In addition a stable develops, in the mechanical characteristics and in the mesh diameter adjustable layer. And very well suitable already admitted, representatives of the polymers who can be processed easily is combinations of Polyanionen, Polykationen and neutral polymers. For this offer themselves in particular as Polyanion polyacrylsaeure and/or Polymethacrylsaeure and/or Polyvinylsulfonsaeure or Polyvinylphosphonsaeure and/or sulfuric acid ester of polymere coal hydrates. The Polykation is appropriately Polyethylenimin and/or Polydimethyldiallylammonium and/or Chitosan. Depending upon the acid strength of the surrounding medium are present polyacrylsaeure, Polymethacrylsaeure, Polyethylenimin and Chitosan as Polyionen or as more or less electrically neutral polymers. The characteristics of the Polyanionen and Polykationen mentioned were determined already by many attempts and are therefore particularly suitable SI for using in fabrics of organisms. A procedure for the production of the according to invention of the micro caps runs in the way the fact that small particles, preferably balls from which nuclear material, which have a diameter within the range of 0,3 to 3 mm, in a mobile fine-mesh basket, preferably made of high-grade steel, is processed. In order to prevent a sticking of the balls together among themselves and with the gefaesswand, a continuous agitating and vertical vibrating offers themselves during the following process steps. Agitating takes place in conventional way with an agitator, while

vertical vibrating is caused e.g. by electric motors moved a suspension. The basket with the balls is treated successively with water and/or suitable salt solutions and dipped in changing consequence into the solution of a Polykations, a Polyanions and a Detergens (for example Natriumdodecylsulfat), whereby the cap covering is gradually developed in each case by adsorption polymers from the solution at the cap exterior surface and by interlacing the adsorbed polymer monolayers. This procedure is repeated several times according to invention with different concentrations and/or chemical compositions of the Polyanion and Polykationloesungen, in order the desired characteristics, to obtain e.g. thickness and mesh size of the monolayers. In addition is recommended, the balls in the basket as a function of the respective nuclear material and before applying the monolayers to dip first into suitable solutions in order to harden it. Solutions, which Calzium, are well-known and well suitably -, strontium or barium ions contain. The finished micro caps are treated with diluted Natriumalginat, in order to prevent a sticking together during the storage, and finally up to the use in water, buffer solution or culture substrate stored. This basic procedure can be varied in the special individual case. So can be appropriate to partly or replace or with them mix the Polyanionen and Polykationen by neutral polymers completely. It can be favourable to interlace the monolayers or the finished micro caps by subsequent treatment with suitable di or polyfunctional reagents additionally and it can be advisable to modify the locking surface layer in order to improve the compatibility with the fabric of a landlord organism. A device for the production of small droplets or balls is characterised by a compression chamber changeable in the volume. This is connected with magnetostrictive or piezoelectric material, which stretches due to electromagnets of produced magnetic field or electrodes of outgoing electrical field attached at the Piezomaterial or pulls together and a variation in volume of the compression chamber produces. Nuclear material is led by a zuehrungsleitung by the storage vessel into the compression chamber; in this zuehrungsleitung a check valve is arranged, which closes, as soon as the pressure is larger in the compression chamber than the pressure in the storage vessel and thus a pressure build-up in the compression chamber made possible. After complete

filling of the compression chamber with nuclear material and a periodically lively variation in volume of these, kle droplets of very exactly reproducibly defined volume from the pressure change at a nozzle bore, whose diameter can be stopped within the range of approximately 0.3 to 3 mm purposefully, result. The organization the periodic current or pulsed voltage supplying source is easily possible according to the rules of modern circuit technology and requires therefore no closer description. The volume of the droplets is proportional to the amplitude of the impulses. For the support of the droplet formation it is appropriate to let the nozzle bore flow around in axial direction of a gas flow which is controllable by venturi tube and a river measurer for the increase of the reproductibility by a precision valve controllable and. The in such a way formed droplets fall into a suitable salt solution, in which they confirm to gel balls. Further details, characteristics and advantages of the invention can be inferred the following description part, in which on the basis the designs remark examples of the invention are more near described. They show in schematic representation in Fig. 1 a device for the production of small droplets under utilization of the magnetostriction effect, Fig. 2 a device according to Fig. 1 under utilization of the piezoelectric effect, Fig. 3 the trap for the produced droplets with the hardening bath and the fine-mesh basket for the further treatment of the balls. The device exists in in its fundamental structure of a storage vessel for nuclear material (7), a zufuehrungsleitung (2) and a compression chamber (1), provided with a nozzle (8). The nuclear material is transported by a positive pressure in the storage vessel (7) by means of the zufuehrungsleitung (2) into the compression chamber (1). For making a pressure build-up possible in the compression chamber the nuclear material supply line (2) is provided with a check valve not represented in the designs. In Fig. 1 is evident that the compression chamber (1) is surrounded by a ring from a magnetostriction alloy (3) and electromagnets a (4). With current flow by the electromagnets (4) the magnetostriction alloy (3) changes its dimensions due to the magnetic field, whereby the volume of the compression chamber changes and a pressure build-up takes place. Thus nuclear material is pressed by the nozzle (8) and it to develop small droplets (9), which are continued to process in the procedure according to invention. In Fig. 2 represented device

works with piezoelectric material (5), which is connected with electrodes (6) and a voltage supply. A creation of a pulsed voltage to the electrodes changed here likewise the volume of the compression chamber (1), leads developing small droplets (9) to a pressure build-up and too at the nozzle (8), which are particularly well size reproducible. The relative variation in volume of the compression chamber is only small in both represented execution forms because of the desired small ball volume. In Fig. to 3 is evident, as the droplets from nuclear material (9), produced with the help of one of the described devices, fall, into a solution (10), in which it to balls solidify. The arrangement is arranged so that these balls collect themselves in a fine-mesh basket (11), in which it in the way according to invention is continued to treat.

19 BUNDESREPUBLIK

DEUTSCHLAND



DEUTSCHES

PATENTAMT

12 Offenlegungsschrift

10 DE 43 12 970 A 1

51 Int. Cl. 5:

B 01 J 13/02

A 61 K 9/50

C 12 N 9/00

C 12 N 5/00

A 61 F 2/02

21 Aktenzeichen: P 43 12 970.6

22 Anmeldetag: 21. 4. 93

43 Offenlegungstag: 27. 10. 94

DE 43 12 970 A 1

71 Anmelder:

Schrezenmeir, Jürgen, Dr., 6500 Mainz, DE;
Pommersheim, Rainer, Dipl.-Ing., 7500 Karlsruhe,
DE; Vogt, Walter, Dr., 6200 Wiesbaden, DE

74 Vertreter:

Pöhner, W., Dipl.-Phys. Dr.rer.nat., Pat.-Anw., 97070
Würzburg

72 Erfinder:

gleich Anmelder

56 Für die Beurteilung der Patentfähigkeit
in Betracht zu ziehende Druckschriften:

DE 34 22 639 C2
DE 35 34 983 A1
DE 35 04 724 A1
DE 34 14 083 A1
DE 27 17 097 A1
DE 26 58 587 A1

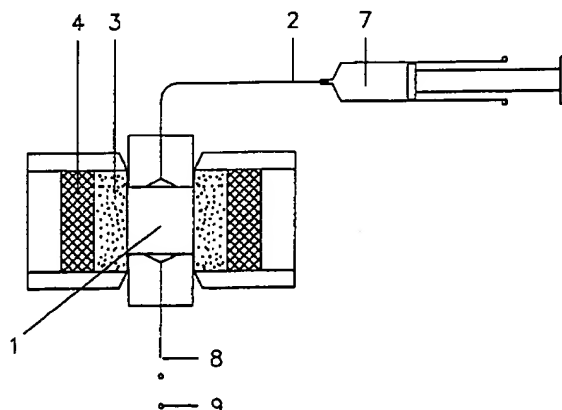
CH 6 64 472 A5
FR 25 71 980
US 51 60 740
US 51 49 543
US 48 06 355
EP 01 88 309 A2
EP 01 67 690 A2
EP 5 44 450 A1
EP 5 13 603 A1
EP 3 01 777 A1
WO 92 06 678
WO 86 03 685
WO 86 01 147
SU 12 25 581 A
SU 10 17 333 A
SU 9 93 954
SU 8 78 303

JP 62-38237 A. In: Patents Abstracts of Japan, C-435,
July 18, 1987, Vol. 11, No. 222;

54 Mikrokapsel sowie Verfahren und Vorrichtung zu ihrer Herstellung

57 Die Erfindung bezieht sich auf eine Mikrokapsel, insbesondere zum Einsetzen in Gewebe von Lebewesen oder für biotechnologische Anwendungen, mit einem lebende Zellen und/oder Enzyme enthaltenden, vorzugsweise kugelförmigen Kern und einer ihn umschließenden Hülle, und empfiehlt, daß die Hülle in radialer Richtung aus mehreren übereinander angeordneten Einzelschichten aufgebaut ist, daß die Einzelschichten den Kern allseitig vollständig umschließen, daß die Einzelschicht aus einem Netzwerk miteinander verflochtener Makromoleküle besteht, die eine poröse Membran bilden, daß die Poren der Einzelschichten in radialer Richtung zur Bildung eines Durchlasses miteinander in Verbindung stehen, daß die benachbarten Einzelschichten kovalent und/oder elektrostatisch aneinander gebunden sind, daß mindestens eine der Einzelschichten mechanisch stabil aufgebaut ist und daß mindestens eine der Einzelschichten eine Maschenweite aufweist, die größer oder gleich dem Durchmesser der größten, zur Versorgung der im Kern enthaltenen Zellen benötigten und/oder der den Enzymen zugeführten und/oder von ihnen produzierten Moleküle ist.

Weiterhin wird ein Verfahren zur Anbringung der erfindungsgemäßen Schichten und eine den Magnetostruktions- bzw. den Piezoeffekt ausnutzende Vorrichtung zur Herstellung von Kügelchen aus dem Kernmaterial vorgeschlagen.



DE 43 12 970 A 1

Die Erfindung bezieht sich auf eine Mikrokapsel, insbesondere zum Einsetzen in Gewebe von Lebewesen oder für biotechnologische Anwendungen, mit einem lebende Zellen und/oder Enzyme enthaltenden, vorzugsweise kugelförmigen Kern und einer ihn umschließenden Hülle, sowie ein Verfahren und eine Vorrichtung zu ihrer Herstellung.

Um die Funktion in das Gewebe von Lebewesen eingesetzter Zellen langfristig aufrechtzuerhalten, ist eine die Zellen enthaltende Mikrokapsel vollständig einschließende Hülle erforderlich. Die Aufgabe dieser Hülle besteht beispielsweise darin, die Mikrokapsel mechanisch stabil zu gestalten, um das Verbleiben der Zellen am gewünschten Ort sicherzustellen. Weiterhin besteht die Aufgabe darin, die Versorgung der Mikrokapsel von außen zu ermöglichen, Abwehrreaktionen des Lebewesens und der eingeschlossenen Zellen zu vermeiden und trotzdem den Transport der von den eingesetzten Zellen produzierten Substanzen von innen nach außen zu ermöglichen. Beispielsweise eignet sich eine Mikrokapsel mit den beschriebenen Eigenschaften zum Einsetzen Langerhans'scher Inseln in das Gewebe von Diabetikern.

Ähnliche Anforderungen werden an Mikrokapseln für biotechnologische Anwendungen gestellt. Auch hier ist beabsichtigt, die eingeschlossenen Zellen oder Enzyme langfristig am Leben und in optimal aktivem Zustand zu erhalten und einen kontrollierten Stoffaustausch zu gewährleisten. Der Einschluß in eine stabile Kapsel schützt einerseits den Kern vor schädigenden Einwirkungen von außen, z. B. vor Infektionen, und andererseits wird eine Kontamination des umgebenden Mediums durch die Zellen in der Kapsel vermieden, was besonders bei Nutzung gentechnologisch manipulierter Organismen zusätzliche Sicherheit gewährleistet. Die, im Vergleich zu den eingeschlossenen Zellen und Enzymen, sehr großen Abmessungen der Kapseln bedingen darüber hinaus eine wesentliche Erleichterung in der Handhabung, besonders bei der Aufarbeitung und Reinigung der mit ihrer Hilfe erzeugten Substanzen. Auch ganz neue Prozesse werden möglich, beispielsweise die direkte Extraktion von Produkten schon im Bioreaktor durch Zusatz von organischen Lösungsmitteln, die nicht durch die einschließende Hülle geschützte Zellen in kurzer Zeit abtöten würden.

F. Lim und A. Sun (Zeitschrift "Science" Band 210, Seiten 908—910, Jahrgang 1980) benutzten eine aus Alginate und Polylysin aufgebaute Schicht, um Langerhans'sche Inseln einzukapseln. Das von Lim und Sun vorgeschlagene Verfahren sieht die Anbringung nur einer einzigen Schicht um den Kern vor.

Ein elektrostatischer Tröpfchen-Generator wurde von M. Hommel et al. (EP 0 167 690) vorgeschlagen. Dieser Generator produziert von Polyelektrolyten umschlossene Kapseln nach dem Prinzip von Lim und Sun. Auch diese Kapseln sind nur von einer einzigen, während eines einzelnen Prozeßschrittes erzeugten Schicht umschlossen.

Es ist sehr problematisch, in einem einzigen Prozeßschritt eine Schicht zu erhalten, deren Eigenschaften auf alle praktischen Anforderungen abgestimmt sind. Daher ist es mit den konventionellen Methoden nicht möglich, beispielsweise eine Kapsel mit einer langfristigen Funktion der implantierten Zellen ermöglichenden Schicht zu erhalten.

Hiervon ausgehend liegt der Erfindung das Problem

zugrunde, Mikrokapseln herzustellen, deren sie umschließende Hülle hinsichtlich verschiedener Eigenschaften optimiert ist.

Erfindungsgemäß wird diese Aufgabe dadurch gelöst, daß die Hülle in radialer Richtung aus mehreren übereinander angeordneten Einzelschichten aufgebaut ist, daß die Einzelschichten den Kern allseitig vollständig umschließen, daß die Einzelschicht aus einem Netzwerk miteinander verflochtener Makromoleküle besteht, die eine poröse Membran bilden, daß die Poren der Einzelschichten in radialer Richtung zur Bildung eines Durchlasses miteinander in Verbindung stehen, daß die benachbarten Einzelschichten kovalent und/oder elektrostatisch aneinander gebunden sind, daß mindestens eine der Einzelschichten mechanisch stabil aufgebaut ist und daß mindestens eine der Einzelschichten eine Maschenweite aufweist, die größer oder gleich dem Durchmesser der größten, zur Versorgung der im Kern enthaltenen Zellen benötigten und/oder der den Enzymen zugeführten und/oder von ihnen produzierten Moleküle ist.

Der Kerngedanke der Erfindung besteht darin, mehrere jeweils hinsichtlich einer Eigenschaft optimierte Einzelschichten in mehreren Prozeßschritten in radialer Richtung übereinander um den Kern herum anzubringen. Alle Einzelschichten umschließen den Kern vollständig. Eine solche Einzelschicht besteht aus einem räumlichen Netzwerk von miteinander verflochtenen Makromolekülen, die in ihrer Gesamtheit eine Membran von poröser Struktur bilden, ähnlich einem Schwammtuch oder einem Filtervlies. Sie entsteht durch Adsorption der einzelnen Makromoleküle aus einer verdünnten Lösung des jeweiligen Polymeren an der Oberfläche der im Aufbau befindlichen Kapsel, beginnend mit einem Partikelchen aus dem nackten Kernmaterial. Die Maschenweite (bzw. Porengröße) und die mechanische Stabilität werden dabei durch die Art des jeweiligen Polymeren, die Abscheidungsbedingungen und die Art der vorhergehenden Schicht bestimmt. Die Poren stehen miteinander in Verbindung (sind offen) und mit dem jeweiligen Lösungsmittel, vorzugsweise Wasser, gefüllt, d. h. die Schicht ist gequollen. Der Stoffaustausch erfolgt durch Diffusion der gelösten Stoffe in diesem Quellungswasser. Nur Moleküle, die kleiner oder gleich der Maschengröße sind, können die Schicht passieren. Die Bindung der Einzelschichten untereinander, also in radialer Richtung, erfolgt durch eine kovalente Bindung der Makromoleküle oder, falls Ionen darin enthalten sind, elektrostatisch. Von diesen Einzelschichten ist erfindungsgemäß mindestens eine so aufgebaut, daß sie eine ausreichende mechanische Stabilität aufweist, wodurch der gesamten Mikrokapsel ebenfalls eine entsprechend hohe Festigkeit verliehen wird, um sie ausreichend stabil für eine Verpflanzung oder eine technologische Anwendung zu gestalten. Eine andere Schicht ist durch Vernetzen von Molekülen bezüglich ihrer Maschenweite so gestaltet, daß sie dem Durchmesser der größten vom Kern zur Versorgung benötigten oder von den Enzymen umgesetzten Moleküle entspricht. Größere Moleküle, wie z. B. Antikörper, die mit dem Kern unerwünschte Abwehrreaktionen eingehen würden, können diese Schicht nicht durchdringen, hingegen können Nährstoffe und andere erwünschte Moleküle passieren. Die Herstellung der Mikrokapseln erfolgt in mehreren Prozeßschritten, in denen die einzelnen Schichten sukzessive übereinander um den Kern herum angebracht werden.

Die mit der Erfindung erzielten Vorteile bestehen vornehmlich darin, daß die sich zu einem problemlosen

Einpflanzen in Gewebe von Lebewesen und für biotechnologische Anwendungen eignende Mikrokapsel allen praktischen Anforderungen genügt. Dadurch ist möglich, Enzyme, Hormone oder andere Stoffe, die der Körper beispielsweise durch einen krankheitsbedingten Ausfall der Produktionszellen, nicht in dem nötigen Maße herzustellen in der Lage ist, von der Kapsel liefern zu lassen, die Kapsel durch den Körper des Lebewesens zu ernähren und dadurch eine langfristige, sichere Funktion zu gewährleisten. In prinzipiell gleicher Weise lassen sich die Kapseln in einem Reaktor, der den Überlebensnotwendigkeiten der eingeschlossenen Zellen bzw. der Wirksamkeit der Enzyme angepaßt ist, dazu verwenden, von außen zugeführte Stoffe durch die Wirkung der im Kern enthaltenen lebenden Zellen oder Enzyme in andere erwünschte Wertprodukte umzuwandeln.

Bevorzugt ist, die innere Schicht mit dem Kern biologisch verträglich zu gestalten, um sicherzustellen, daß er für längere Zeit die benötigten Enzyme, Hormone oder anderen Stoffe abgeben kann und daß hier keine unerwünschte Abwehrreaktion stattfindet.

Falls die Kapsel in das Gewebe des Lebewesens eingepflanzt werden soll, ist es zweckmäßig, die äußere Schicht mit ihrer Umgebung, also dem Gewebe verträglich zu gestalten, um Abwehrreaktionen des Lebewesens und eine Abstoßung der Kapsel zu vermeiden. Die äußere Schicht bestimmt die Verträglichkeit der gesamten Kapsel, da nur sie mit dem Gewebe in Berührung kommt. Befindet sich die Kapsel in einem Reaktor, ist ebenfalls eine Verträglichkeit der äußeren Einzelschicht mit ihrer Umgebung zur Sicherung der Funktionsfähigkeit erforderlich.

In der Realisation der Einzelschichten bestehen im Rahmen der Erfindung verschiedene Möglichkeiten. Eine vorteilhafte Ausgestaltung der Erfindung besteht darin, daß die Schichten aus einem Stoff mit ionischer und/oder kovalenter chemischer Bindung aufgebaut sind. Diese beiden Bindungstypen ermöglichen stabile Schichten, die unter Verwendung von insbesondere biologisch verträglichen, organischen Materialien aufgebaut sind.

Insbesondere bietet sich an, eine Einzelschicht aus einem Polymer aufzubauen, das biologisch gut verträglich und außerdem leicht aufbringbar ist. Bei Vernetzung von Polymeren sind sehr dünne Schichten auf chemischem Weg in einem biologisch sinnvollen Temperaturbereich in einer Flüssigkeit erzielbar. Außerdem entsteht eine stabile, in den mechanischen Eigenschaften und im Maschendurchmesser einstellbare Schicht.

Bereits bekannte und sehr gut geeignete, leicht zu verarbeitende Vertreter der Polymere sind Kombinationen von Polyanionen, Polykationen und neutralen Polymeren.

Hierzu bietet sich insbesondere als Polyanion Polyacrylsäure und/oder Polymethacrylsäure und/oder Polyvinylsulfonsäure oder Polyvinylphosphonsäure und/oder Schwefelsäureester polymerer Kohlenhydrate an.

Das Polykation ist zweckmäßigerweise Polyethylenimin und/oder Polydimethylallylammonium und/oder Chitosan.

Je nach der Säurestärke des umgebenden Mediums liegen Polyacrylsäure, Polymethacrylsäure, Polyethylenimin und Chitosan als Polyionen oder als mehr oder weniger elektrisch neutrale Polymere vor.

Die Eigenschaften der genannten Polyanionen und Polykationen sind bereits durch viele Versuche ermittelt worden und eignen sich demzufolge besonders zum Ein-

setzen in Gewebe von Lebewesen.

Ein Verfahren zur Herstellung der erfindungsgemäßen Mikrokapseln verläuft in der Weise, daß kleine Partikel, vorzugsweise Kügelchen, aus dem Kernmaterial, die einen Durchmesser im Bereich von 0,3 bis 3 mm haben, in einem beweglichen feinmaschigen Korb, vorzugsweise aus Edelstahl, weiterverarbeitet werden. Um ein Verkleben der Kügelchen untereinander und mit der Gefäßwand zu verhindern, bietet sich während der nachfolgenden Prozess-Schritte ein kontinuierliches Umrühren und vertikales Schütteln an. Das Umrühren erfolgt in konventioneller Weise mit einem Rührwerk, während das vertikale Schütteln z. B. durch eine elektromotorisch bewegte Aufhängung bewirkt wird.

Der Korb mit den Kügelchen wird nacheinander mit Wasser und/oder geeigneten Salzlösungen behandelt und in wechselnder Folge in die Lösung eines Polykations, eines Polyanions und eines Detergens (beispielsweise Natriumdodecylsulfat) getaucht, wobei die Kapselhülle jeweils durch Adsorption des Polymeren aus der Lösung an der Kapselaußenfläche und durch Vernetzen der adsorbierten Polymereinzelschichten schrittweise aufgebaut wird.

Diese Prozedur wird erfindungsgemäß mehrfach mit verschiedenen Konzentrationen und/oder chemischen Zusammensetzungen der Polyanion- und Polykationlösungen wiederholt, um die gewünschten Eigenschaften, wie z. B. Dicke und Maschenweite der Einzelschichten zu erzielen.

Außerdem ist empfohlen, die Kügelchen im Korb in Abhängigkeit vom jeweiligen Kernmaterial und vor dem Aufbringen der Einzelschichten, zunächst in geeignete Lösungen zu tauchen, um sie zu härten. Bekannt und gut geeignet sind Lösungen, die Calcium-, Strontium- oder Barium-Ionen enthalten.

Die fertigen Mikrokapseln werden mit verdünntem Natriumalginat behandelt, um ein Verkleben während der Lagerung zu verhindern, und abschließend bis zur Verwendung in Wasser, Pufferlösung oder Kultursubstrat gelagert.

Diese Grundprozedur kann im speziellen Einzelfall variiert werden. So kann zweckmäßig sein, die Polyanionen und Polykationen durch neutrale Polymere teilweise oder ganz zu ersetzen oder mit ihnen zu mischen. Es kann vorteilhaft sein, die Einzelschichten oder die fertigen Mikrokapseln durch Nachbehandlung mit geeigneten di- oder poly-funktionellen Reagenzien zusätzlich zu vernetzen und es kann sich empfehlen, die abschließende Deckschicht zu modifizieren, um die Verträglichkeit mit dem Gewebe eines Wirtsorganismus zu verbessern.

Eine Vorrichtung zur Herstellung kleiner Tröpfchen oder Kügelchen zeichnet sich durch eine im Volumen veränderbare Kompressionskammer aus. Diese ist mit magnetostraktivem oder piezoelektrischem Material verbunden, das sich aufgrund eines von einem Elektromagneten erzeugten Magnetfeldes oder von am Piezomaterial angebrachten Elektroden ausgehenden elektrischen Feldes dehnt oder zusammenzieht und dabei eine Volumenänderung der Kompressionskammer erzeugt. Kernmaterial wird durch eine Zuführungsleitung vom Vorratsbehälter in die Kompressionskammer geführt; in dieser Zuführungsleitung ist ein Rückschlagventil angeordnet, das schließt, sobald der Druck in der Kompressionskammer größer als der Druck im Vorratsbehälter ist und somit einen Druckaufbau in der Kompressionskammer ermöglicht. Nach dem vollständigen Füllen der Kompressionskammer mit Kernmaterial und einer periodisch angeregten Volumenänderung dieser,

entstehen durch die Druckänderung an einer Düsenöffnung kleine Tröpfchen von sehr genau reproduzierbar definiertem Volumen, deren Durchmesser im Bereich von etwa 0,3 bis 3 mm gezielt eingestellt werden kann. Die Gestaltung der periodische Strom- oder Spannungsimpulse liefernden Quelle ist nach den Regeln moderner Schaltungstechnik ohne weiteres möglich und bedarf daher keiner näheren Beschreibung. Das Volumen der Tröpfchen ist zur Amplitude der Impulse proportional.

Zur Unterstützung der Tröpfchenbildung ist es zweckmäßig, die Düsenöffnung in axialer Richtung von einem Gasstrom umfließen zu lassen, der zur Erhöhung der Reproduzierbarkeit durch ein Präzisionsventil steuerbar und durch ein Venturirohr und einen Flußmesser kontrollierbar ist.

Die so gebildeten Tröpfchen fallen in eine geeignete Salzlösung, in der sie zu Gelkugeln erhärten.

Weitere Einzelheiten, Merkmale und Vorteile der Erfindung lassen sich dem nachfolgenden Beschreibungsteil entnehmen, in dem anhand der Zeichnungen Ausführungsbeispiele der Erfindung näher erläutert werden. Sie zeigen in schematischer Darstellung in

Fig. 1 eine Vorrichtung zur Erzeugung kleiner Tröpfchen unter Ausnützung des Magnetostruktionseffektes,

Fig. 2 eine Vorrichtung entsprechend Fig. 1 unter Ausnützung des piezoelektrischen Effektes,

Fig. 3 die Auffangvorrichtung für die erzeugten Tröpfchen mit dem Härtebad und dem feinmaschigen Korb zur weiteren Behandlung der Kügelchen.

Die Vorrichtung besteht in ihrem grundsätzlichen Aufbau aus einem Vorratsbehälter für Kernmaterial (7), einer Zuführungsleitung (2) und einer mit einer Düse (8) versehenen Kompressionskammer (1). Das Kernmaterial wird durch einen Überdruck im Vorratsbehälter (7) mittels der Zuführungsleitung (2) in die Kompressionskammer (1) transportiert. Zur Ermöglichung eines Druckaufbaus in der Kompressionskammer ist die Kernmaterial-Zuführungsleitung (2) mit einem in den Zeichnungen nicht dargestellten Rückschlag-Ventil versehen.

In Fig. 1 ist ersichtlich, daß die Kompressionskammer (1) von einem Ring aus einer Magnetostruktions-Legierung (3) und einem Elektromagneten (4) umgeben ist. Bei Stromfluß durch den Elektromagneten (4) verändert die Magnetostruktions-Legierung (3) aufgrund des Magnetfeldes ihre Abmessungen, wodurch sich das Volumen der Kompressionskammer ändert und ein Druckaufbau stattfindet. Dadurch wird Kernmaterial durch die Düse (8) gepreßt und es entstehen kleine Tröpfchen (9), die nach dem erfindungsgemäßen Verfahren weiter verarbeitet werden.

Die in Fig. 2 dargestellte Vorrichtung arbeitet mit piezoelektrischem Material (5), das mit Elektroden (6) und einer Spannungsquelle verbunden ist. Ein Anlegen eines Spannungsimpulses an die Elektroden verändert hier ebenfalls das Volumen der Kompressionskammer (1), führt zu einem Druckaufbau und zu an der Düse (8) entstehenden kleinen Tröpfchen (9), die besonders gut großreproduzierbar sind. Die relative Volumenänderung der Kompressionskammer ist in beiden dargestellten Ausführungsformen wegen des gewünschten kleinen Kugelvolumens nur gering.

In Fig. 3 ist ersichtlich, wie die mit Hilfe einer der beschriebenen Vorrichtungen erzeugten Tröpfchen aus Kernmaterial (9), in eine Lösung (10) fallen, in der sie zu Kügelchen erstarrten. Die Anordnung ist so gestaltet, daß diese Kügelchen sich in einem feinmaschigen Korb

(11) sammeln, in dem sie auf die erfindungsgemäße Art und Weise weiter behandelt werden.

Patentansprüche

1. Mikrokapsel, insbesondere zum Einsetzen in Gewebe von Lebewesen oder für biotechnologische Anwendungen, mit einem lebende Zellen und/oder Enzyme enthaltenden, vorzugsweise kugelförmigen Kern und einer ihn umschließenden Hülle, dadurch gekennzeichnet, daß die Hülle in radialer Richtung aus mehreren übereinander angeordneten Einzelschichten aufgebaut ist, daß die Einzelschichten den Kern allseitig vollständig umschließen, daß die Einzelschicht aus einem Netzwerk miteinander verflochtener Makromoleküle besteht, die eine poröse Membran bilden, daß die Poren der Einzelschichten in radialer Richtung zur Bildung eines Durchlasses miteinander in Verbindung stehen, daß die benachbarten Einzelschichten kovalent und/oder elektrostatisch aneinander gebunden sind, daß mindestens eine der Einzelschichten mechanisch stabil aufgebaut ist, und daß mindestens eine der Einzelschichten eine Maschenweite aufweist, die größer oder gleich dem Durchmesser der größten, zur Versorgung der im Kern enthaltenen Zellen benötigten und/oder der den Enzymen zugeführten und/oder von ihnen produzierten Moleküle ist.
2. Mikrokapsel nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die innere Einzelschicht mit dem Kern biologisch verträglich ist.
3. Mikrokapsel nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß die äußere Einzelschicht mit dem Gewebe und/oder der Umgebung der Mikrokapsel biologisch verträglich ist.
4. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß eine Einzelschicht aus einem Stoff mit ionischer und/oder kovalenter Bindung aufgebaut ist.
5. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, daß eine Einzelschicht aus einem Polymer aufgebaut ist.
6. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß eine Einzelschicht aus einem anionischen und/oder aus einem kationischen und/oder aus einem neutralen Polymer und/oder aus einem Polyanion-Polykation-Polymer (Polyampholyt) aufgebaut ist.
7. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß das Polyanion Polyacrylsäure und/oder Polymethacrylsäure und/oder Polyvinylsulfonsäure und/oder Polyvinylphosphonsäure und/oder Schwefelsäureester polymerer Kohlenhydrate ist.
8. Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Polykation Polyethylenimin und/oder Polydimethyldiallylammonium und/oder Chitosan ist.
9. Verfahren zur Herstellung einer Mikrokapsel nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß Kügelchen oder andersgeformte Partikel aus dem Kernmaterial durch Rühren und Bewegen in Schwebelösung gehalten werden, daß diese Kügelchen oder Partikel nacheinander in

Wasser oder eine Salzlösung, in die Lösung eines Polymers und in die Lösung eines Detergens, beispielsweise Natriumdodecylsulfat getaucht werden und daß diese Prozedur bei verschiedenen Konzentrationen und/oder chemischen Zusammensetzungen von Polymere enthaltenden Lösungen wiederholt wird. 5

10. Verfahren nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Kügelchen oder Partikel zunächst in sie härtende, bevorzugt Calcium- und/oder Strontium- und/oder Barium-Ionen enthaltende Lösungen getaucht werden, 10
daß die Kügelchen oder Partikel (9) nach dem Aufbringen der Einzelschichten in verdünntes Natriumalginat getaucht werden, 15
und daß die Kügelchen (9) abschließend in Wasser oder in einer Pufferlösung oder in einem Kultursubstrat gelagert werden.

11. Verfahren nach einem der Ansprüche 9 oder 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Kügelchen oder Partikel vor den Tauchvorgängen in einen feinmaschigen Korb eingeführt werden. 20

12. Vorrichtung zur Herstellung von Tröpfchen und Kügelchen zur Verwendung in einem der Verfahren nach Anspruch 9 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß eine Kompressionskammer (1) mit einer Zuführungsleitung und einer Düse (8) verbunden ist, 25

daß zur Volumenänderung der Kompressionskammer (1) magnetostriktives Material (3) mit einem daran angeordneten Elektromagneten (4) oder piezoelektrisches Material (5) mit daran angeordneten Elektroden (6) verwendet ist, 30

daß in der zu einem Vorratsbehälter (7) für Kernmaterial führenden Zuführungsleitung (2) ein Rückschlag-Ventil angeordnet ist und 35

daß der Elektromagnet (4) oder die Elektroden (6) mit einer periodische Impulse liefernden Strom- oder Spannungsquelle verbunden sind.

13. Vorrichtung nach Anspruch 12, gekennzeichnet durch eine in axialer Richtung gasumströmte Düsenöffnung (8). 40

Hierzu 2 Seite(n) Zeichnungen

45

50

55

60

65

- Leerseite -

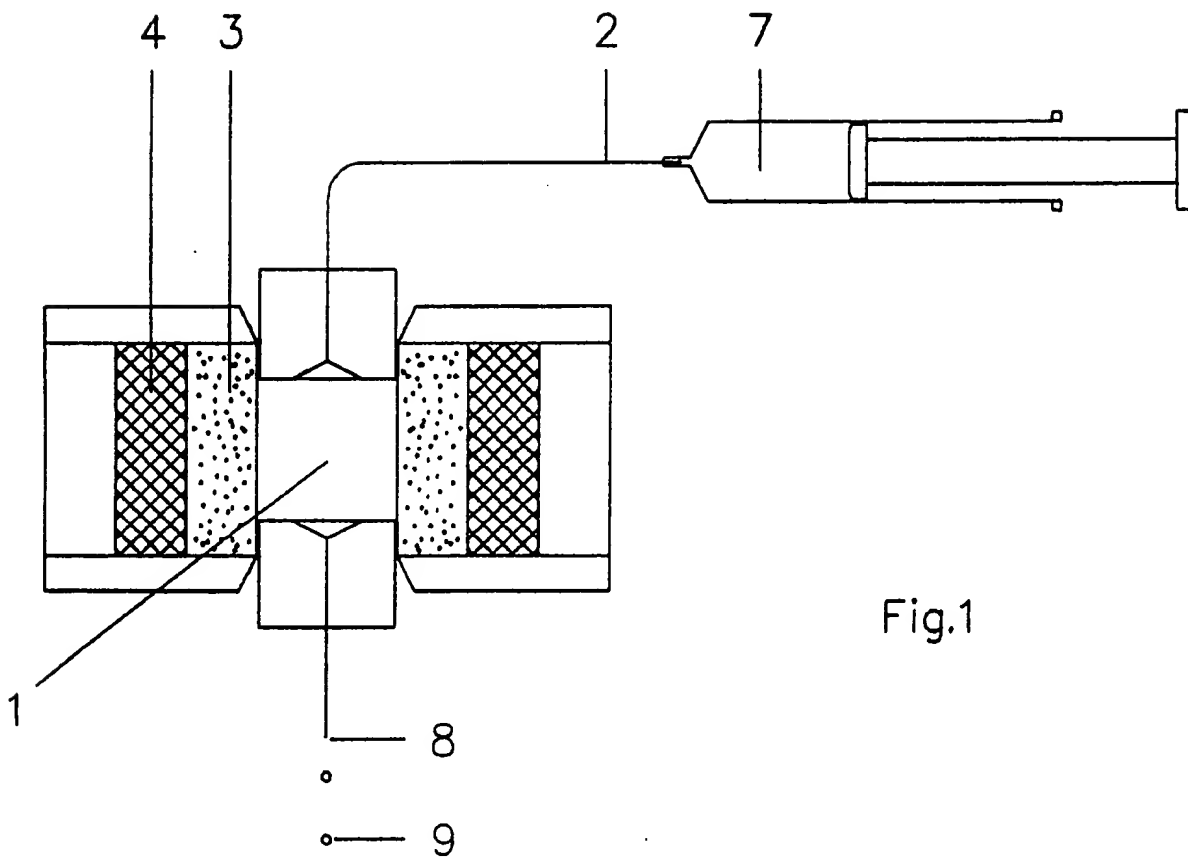


Fig.1

